

О. Г. Макеев, А. В. Коротков, С. В. Костюкова, О. А. Сатонкина, Е. А. Шуман,  
В. А. Буханцев, М. С. Васильева, А. И. Пономарев, В. В. Мелехин

## ПРИНЦИПЫ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ МУЛЬТИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*Уральский государственный медицинский университет  
Институт медицинских клеточных технологий  
г. Екатеринбург*

### Аннотация

В данной статье представлена актуальная информация в отношении сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний: статистические показатели, недостаточная эффективность существующего лечения, необходимость генной терапии. В отношении хирургических подходов к лечению данных заболеваний существует ряд противопоказаний, а достигаемый результат не всегда продолжителен; медленный рост и обновление сосудов генетически детерминированы, что обуславливает низкую эффективность консервативных способов. Поэтому необходимо воздействовать не на фенотипические проявления патологии, а на патогенетические механизмы. В работе описаны новые, уже запатентованные разработки (противоопухолевая вакцина, генно-клеточная терапия сахарного диабета, терапии нейротрофических язв и др.).

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет, онкология, генная терапия, вакцина, патент.

По данным ВОЗ, основными причинами смертности населения являются сосудистые (в мире — 58%, в РФ — 55,6%) и онкологические (17%, в РФ — 13,9%) заболевания, а так же болезни, связанные с обменными нарушениями и, прежде всего, сахарный диабет. Последний вносит в показатели смертности как самостоятельный вклад, так и опосредованный, выступая в качестве усугубляющего фактора в отношении течения многих других заболеваний.

Особую актуальность разрабатываемому направлению придает то, что бесспорные достижения современной медицины в лечении многих заболеваний не сопровождаются сколько-нибудь значимым снижением заболеваемости и смертности от означенных патологий. Напротив, если смертность от сердечно-сосудистых заболеваний за последние 30 лет в России остается на стабильно высоком уровне (колебания показателя не превышают 5% в год), то ежегодный прирост онкозаболеваемости составляет около 2%, что за последнее десятилетие уже привело к увеличению числа онкобольных на 25,5% с соответствующим повышением показателя смертности. В свою очередь, число больных сахарным диабетом в мире увеличивается на 7 млн. человек в год,

а в России — на 500-600 тыс., охватывая около 5% населения. При этом в нашей стране 12-13% жителей уже имеют нарушения углеводного обмена, в той или иной степени связанные с изменением толерантности к глюкозе и инсулинорезистентностью.

Для определения направлений поиска и разработки новых эффективных способов терапии социально-значимых заболеваний важно понимание того, что их объединяет общая причина.

Так, установлено, что в тканях, регенерация которых осуществляется не посредством клеточного деления, а за счет внутриклеточной регенерации (миокард, головной и спинной мозг), полное обновление микрососудистого русла реализуется замедленно — за 4-7 лет. Однако более чем у 70% людей генетически детерминировано отсутствие такой реакции на гипоксию, как новообразование кровеносных сосудов. Данный эволюционно закрепленный дефект обуславливает то, что периодически возникающие в сердце и мозге зоны ишемии компенсируются исключительно за счет кратковременного усиления кровотока (срочная адаптация), но не посредством образования новых микрососудов (долговременная адаптация). Это со всей неизбежностью сопровождается расширением зон ишемии

с повреждением клеток и развитием инфарктов и инсультов.

Таким образом, в сердце и центральной нервной системе медленный рост и обновление микрососудистого русла генетически детерминированы, что обуславливает низкую эффективность консервативных способов.

Альтернативой считается введение факторов роста белковой природы, стимулирующих новообразование сосудов в поврежденных тканях *de novo*. Проведенные клинические испытания показали низкую эффективность таких факторов, ввиду их быстрого распада и элиминации из организма пациента [9].

Поэтому с целью восстановления перфузии органов и тканей применяются хирургические подходы, однако в отношении их применения существует ряд противопоказаний, а достигаемый результат не всегда продолжителен [12].

В свою очередь, основу поступательного развития канцерогенеза составляет низкая иммуногенность опухолевых клеток, препятствующая их распознаванию иммунной системой. Последняя также обусловлена генетически детерминированной сохранностью генов главного комплекса гистосовместимости у онкотрансформированных клеток, несмотря на значительное искажение их генетического профиля в других участках генома [10].

Возникновение сахарного диабета и инсулинорезистентности также эволюционно закреплено. Так, гормон-обусловленный выброс глюкозы и/или повышение ее концентрации в крови вызывают такие гормоны как адреналин, норадреналин, соматотропный гормон, гормоны щитовидной железы, глюкагон, стероиды, нейромедиаторы и некоторые релизинг-факторы. Снижение уровня глюкозы обеспечивает только один сложномолекулярный гормон — инсулин, синтез и функциональная активность которого могут быть нарушены вследствие многих причин. Такая эволюционно закрепленная асимметрия связана с превалирующей востребованностью состояния гипергликемии в качестве жизнесберегающей реакции у млекопитающих (физические нагрузки, встречная агрессия и др.). В свою очередь, инсулин-чувствительные рецепторы кодируются в области генома с большим генетическим полиморфизмом (изменчивостью), по сравнению с константными участками ДНК, кодирующими последовательность других фенотипически

значимых белков. Вариативность структуры инсулин-чувствительных рецепторов формирует приобретаемую невосприимчивость различных клеток к эндогенному инсулину, верифицируемую как инсулинорезистентность [8].

Стабильно высокая концентрация глюкозы в крови сопровождается проявлением ее «джокерной» роли с прямым повреждением чувствительных нервных окончаний, нарушением эффективной передачи сигнала и снижением нейротрофической функции. При этом нарушение нервной трофики, наряду с диабетической ангиопатией, приводит к развитию основного инвалидизирующего осложнения диабета — нейротрофическим язвам нижних конечностей, развивающимся в течение жизни у 25% больных.

Все вышеизложенное обуславливает необходимость смены прежней парадигмы, основанной на применении средств, воздействующих исключительно на фенотипические проявления патологии. Новая парадигма направлена на разработку путей коррекции эволюционно сформированных генетических особенностей человека, то есть на патогенетическую терапию таких болезней.

Генно-терапевтический подход к лечению мультифакторных заболеваний получил развитие благодаря прямым контрактам, заключенным в марте 2010 г. с 17 ведущими научными центрами (включая Национальные институты здоровья) США и Европы. Согласно условиям заключенных контрактов, патентование вновь созданных разработок, связанных с модификацией плазмид и технологий их использования, предусматривает возможность трансфера прав на применение генных конструкторов в пользу разработчика.

В настоящее время геномные технологии включены в перечень критических технологий Российской Федерации и являются предметом государственного регулирования в рамках Федеральных законов: ФЗ-86 от 05.07.1996 в редакции ФЗ-96 с изменениями от 12.07.2000, 30.12.2008, 29.09.2010, 04.10.2010, 19.07.2011.

Согласно установленному порядку, деятельность по изменению генетического материала человека для генной терапии, в целях лечения заболеваний, относится к замкнутой системе с низким уровнем риска и не требует отдельного лицензирования.

Принцип реализации технологии генной терапии предусматривает применение генных

плазмид, представляющих собой генную конструкцию из полезного гена (например, гена фактора роста сосудов), и вспомогательных участков, обеспечивающих экспрессию гена в клетке.

Аналог вводимого гена имеется в геноме клетки, но он неактивен, а вызвать его избирательную активацию (экспрессию) не затронув другие гены невозможно без фатальных последствий для клетки. Введение плазмиды сопровождается образованием кодируемого геном продукта (например, фактора роста сосудов), который постоянно выделяясь из клеток в околоклеточную среду, стимулирует рост соответствующих тканей (например, капилляров). Стабильный синтез таких продуктов — цитокинов — обеспечивает их постоянный эффект (в отличие от экзогенных факторов роста, разрушающихся околоклеточными ферментами в течение минут-часов).

### **Средство для терапии сердечно-сосудистой недостаточности**

Разрабатываемый нами препарат способен эффективно инициировать неангиогенез в зоне ишемии миокарда и при моделировании коронарной недостаточности показал способность восстанавливать сократительную функцию миокарда и снижать риск развития повторных ишемических инфарктов.

В настоящее время проводятся клинические испытания различных препаратов как собственно факторов, стимулирующих неангиогенез, так и генных конструкторов, обеспечивающих синтез факторов роста. Полученные результаты неоднозначны. Так, например, препарат «Неоваскулген», зарегистрированный ОАО «Институт стволовых клеток человека», позволяет улучшить гемодинамику у пациентов, однако эффект у 40-50% пациентов расценивается от «умеренного» до «минимального».

Сходные результаты получены исследовательскими группами из Института биологии гена РАН, NHLBI USA, Whitehead Institute for Biomedical Research, USA.

Причина невысокого клинического эффекта заключается в том, что белок, кодируемый геном VEGF165, не является единственным необходимым для развития и поддержания процесса неангиогенеза.

Нами одновременно используется несколько генов, контролирующих различные этапы неангиогенеза, что в экспериментальных условиях

уже позволило получить результаты, превосходящие таковые у отечественных и зарубежных аналогов.

Полученные результаты запатентованы [7]. Кроме того, проект вошел в четыре лучших инновационных проекта Российской Федерации (по президентской программе «Звoryкинская премия», Сколково), стал лучшим медицинским проектом России в 2010 году в номинации «Инновационная идея».

### **Создание противоопухолевой вакцины как средства лечения онкологических заболеваний**

Угнетение иммунной системы, ответственной за противораковый иммунитет, которое рассматривается в настоящее время в качестве основной причины развития онкопатологии, еще более усугубляется применением известных методов терапии опухолевых заболеваний, основанных на подавлении роста быстро пролиферирующих, в том числе иммунных, клеток.

Альтернативный подход к лечению онкопатологии — генотерапия. Предполагается, что сверхэкспрессия или нокаут тех или иных генов в клетках опухолевой ткани позволит преодолеть феномен иммунологической толерантности злокачественных опухолей или запустить в программу «самоубийства» трансформированных клеток. Так, в нашей лаборатории в ходе предварительных исследований показано, что трансфекцирование клеток злокачественных опухолей вектором, несущим в качестве полезного гена гены семейства Klotho, сопровождается гибелью клеток вследствие активации процессов апоптоза. В то же время в клетках нормальных тканей сверхэкспрессия генов не сопровождается усилением их гибели.

Предварительные наработки запатентованы [5, 6], а система контроля безопасности трансфекции культивируемых клеток генами, разработанная для выполнения темы, удостоена Золотой медали на Международной выставке инноваций (Женева, Швейцария, 2011).

### **Разработка генно-клеточной терапии сахарного диабета**

Сахарный диабет (СД) занимает третье место среди непосредственных причин смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, поэтому решение вопросов, связанных с проблемой сахарного диабета,

поставлено во многих странах на государственный уровень. По определению экспертов ВОЗ, «сахарный диабет является проблемой всех возрастов и всех стран». При этом в структуре заболеваемости доминирует сахарный диабет II типа, составляя 80-90% от всей популяции больных, страдающих данным заболеванием.

В настоящее время известен целый ряд препаратов, позволяющих снизить уровень глюкозы в крови.

Однако в ходе крупнейшего 5-летнего мультицентрового исследования ADOPT [11] оказалось, что данные препараты (росиглитазон, глибенкламид, метформин) обеспечивают успешный целевой контроль СД 2 типа, по уровню HbA<sub>1c</sub> только на протяжении незначительного времени (3-5 лет), подавляя при этом секреторную активность клеток и их чувствительность к глюкозному стимулу. Следует подчеркнуть, что именно этот дефект рассматривается в качестве ключевой причины прогрессирования СД 2 типа и усиления гипергликемии на фоне терапии данными препаратами. В ходе исследования был сделан вывод, что возможность обеспечения долгосрочного контроля уровня глюкозы в крови на должном уровне ограничена, и поставлена задача поиска новых подходов к терапии.

Развитие сахарного диабета II типа в большинстве случаев связано с утратой чувствительности рецепторов к инсулину. Разрабатываемый нами на основе генов семейства Klotho геннотерапевтический препарат, как показали предварительные исследования, восстанавливает чувствительность клеток к инсулину.

### **Разработка способа терапии нейротрофических язв нижних конечностей при сахарном диабете**

Основным инвалидизирующим осложнением сахарного диабета в настоящее время является развитие нейротрофических язв нижних конечностей, вследствие поражения сосудов и нарушения нервной трофики. В этих условиях для повышения жизнеспособности клеток нами применяется их предварительная трансфекция плазмидами, несущими ген теломеразы.

В части терапии нейротрофических язв нижних конечностей начаты клинические испытания, показавшие результат, превосходящий зарубежные аналоги.

Результаты данных исследований запатентованы [1, 2, 3, 4]. Проект удостоен Золотых медалей и дипломов центральной Российской биотехнологической выставки «РосБиоТех 2011» и «РосБиоТех 2014» (Экспоцентр, Москва).

### **ЛИТЕРАТУРА:**

1. Патент РФ №2345781 «Способ получения культуры клеток кожи».
2. Патент РФ №2401114 «Способ лечения и профилактики осложнений у больных сахарным диабетом второго типа».
3. Патент РФ №2433173 «Способ криоконсервации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток».
4. Патент РФ №2446811 «Способ лечения нейротрофических язв нижних конечностей».
5. Патент РФ №2355408 «Профилактически-лечебное антимулагенное средство и способ его применения».
6. Патент РФ №2287336 «Способ лечения онкологических больных».
7. Патент РФ №2444378 «Способ лечения коронарной недостаточности при моделируемой ишемии миокарда».
8. Forbes J. M., Cooper M. E. Mechanisms of diabetic complications. //Physiol Rev. 2013 Jan; 93 (1): 137-88.
9. Kleiman N. S., Califf R. M. Results from late-breaking clinical trials sessions at ACCIS 2000 and ACC 2000. American College of Cardiology // J. Am. Coll. Cardiol. 2000; 36: 310-325.
10. Tubiana M. Prevention of cancer and the dose-effect relationship: the carcinogenic effects of ionizing radiations // Cancer Radiother. 2009 Jul;13 (4):238-58.
11. Viberti G, Kahn E., Greene A., et al A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT) An international multicenter study of the comparative efficacy of rosiglitazone, glyburide, and metformin in recently diagnosed type 2 diabetes// Diabetes Care October 2002 vol. 25 no. 101737-1743.
12. Wustmann K, Zbinden S, Windecker S et al. Is there functional collateral flow during vascular occlusion in angiographically normal coronary arteries// Circulation 2003; 107: 2213-20.

О. Ю. Малоземов

## ВАЛЕОУСТАНОВКИ УЧАЩИХСЯ И ОБЩЕСТВА КАК ЭЛЕМЕНТ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕЖЕНИЯ

*Уральский государственный медицинский университет  
г. Екатеринбург*

### Аннотация

Проблемы сохранения здоровья в молодежной среде связаны с формированием валеоустановок ресурсного типа и востребованностью здоровьесохранного поведения обществом. Для изучения вопросов терминальных ценностей учащихся нами был проведен ряд социально-педагогических исследований, и сделаны выводы. Взгляд молодежи: здоровье не самоцель, а средство достижения других целей. Здоровьеобразующее влияние общества при социализации учащихся проявляется в основном на когнитивном уровне, но не на мотивационно-ценностном, тем более не на поведенческом.

**Ключевые слова:** валеоустановка, ранжирование терминальных ценностей, стресс-факторы, здоровьесбережение.

В современном мире появляется много факторов, усиливающих рассогласование человека не только с природной и социальной средой, но и с самим собой. Это ведет к снижению личностного потенциала здоровья, к воспроизводству (в том числе и социальному) нездоровых людей, не способных даже понять, ощутить, осознать всю глубину своего нездоровья. Современное образование отстает от жизненных проблем молодежи, учащихся не учат видеть сущность человека, противоречивость его существования в обществе. Не воспитывается сопротивляемость молодежи к здоровьезатратным способам «окультуривания».

Природную основу личности образуют ее биологические особенности, но ее сущностным основанием, опосредующими факторами развития являются *социально значимые* качества. Зачастую многие из последних противоречат здоровьесберегающим принципам. Поэтому в проблемах здоровьесбережения молодежи актуализируется сохранение здоровья при социальной адаптации учащейся молодежи. Социальная адаптация — всегда активный процесс, происходящий в двух вариантах: изменение социальной среды или изменение себя. Причем такое изменение себя, оставаясь адаптацией и решая задачи адаптации, может объективно протекать как *развитие* личности. «В случае неприемлемости для личности, по каким-либо причинам этих

вариантов, адаптационный процесс протекает по типу активного поиска в социальном пространстве новой среды, с высоким адаптивным потенциалом для данной личности» [3].

Проблемы сохранения здоровья в молодежной среде связаны с формированием валеоустановок ресурсного типа [1] и востребованностью здоровьесохранного поведения обществом, т.е. с социализацией. Поскольку поведенческую основу валеоустановок определяет степень активности и самостоятельности в осуществлении физкультурно-оздоровительной деятельности, то интересно выявление связи между валеоустановками учащихся и процессом социализации. Подобные попытки выявления связи спорта и некоторых переменных социализации (самоуважение, просоциальное поведение, ценностные ориентации и моральная зрелость) в подростково-юношеской среде известны [4]. Однако авторы утверждают, что пока нет ясного ответа не только на выдвинутые вопросы, но и отсутствует единая методология по определению двигательной деятельности и связанных с ней особенностей социального поведения. Это создает трудности в интерпретации данных разных авторов и формулировании обобщающих выводов. Тем не менее, сфера физической культуры обладает не только телесно-оздоровительным, но и высочайшим социально-психологическим адаптивным потенциалом.